

(8)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-003363

(43)Date of publication of application : 09.01.2002

(51)Int.Cl.

A61K 7/48

A61K 7/00

(21)Application number : 2001-118479

(71)Applicant : NOF CORP

(22)Date of filing : 17.04.2001

(72)Inventor : ISHIDA MISAKI
SATOU SAORI
HASHIZUME RON
HAYASHI SHINJI

(30)Priority

Priority number : 2000117519 Priority date : 19.04.2000 Priority country : JP

(54) COSMETIC COMPOSITION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a cosmetic composition having an excellent bleaching effect, keeping moisture for many hours, having excellent firmness imparting effect on the skin, wrinkle controlling effect and excellent stability with time.

SOLUTION: This cosmetic contains 0.00005-10 wt.% of a polymethoxyflavone containing ≥ 4 methoxy groups. A form such as a skin lotion, a milky lotion, an oil-in-water type cream, a water-in-oil type cream, or the like, is preferable as the cosmetic.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-3363

(P2002-3363A)

(43) 公開日 平成14年1月9日(2002.1.9)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	マークシート(参考)
A 6 1 K	7/48	A 6 1 K	7/48
	7/00		7/00
			D
			M
			N

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2001-118479(P2001-118479)
(22) 出願日	平成13年4月17日(2001.4.17)
(31) 優先権主張番号	特願2000-117519(P2000-117519)
(32) 優先日	平成12年4月19日(2000.4.19)
(33) 優先権主張国	日本 (J P)

(71) 出願人	000004341 日本油脂株式会社 東京都渋谷区恵比寿四丁目20番3号
(72) 発明者	石田 実咲 兵庫県尼崎市大庄西町4-12-1
(72) 発明者	佐藤 さおり 神奈川県南足柄市関本108-203
(72) 発明者	橘爪 論 千葉県我孫子市布佐平和台5-10
(72) 発明者	林 伸二 兵庫県尼崎市大庄西町4-12-1
(74) 代理人	100104673 弁理士 南條 博道

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 化粧品組成物

(57) 【要約】

【課題】 美白効果に優れるとともに、うるおいを長時間保ち、肌にはりを与える効果、およびしわ抑制効果に優れ、経時安定性にも優れる化粧品組成物を提供すること。

【解決手段】 メトキシ基を4個またはそれ以上有するポリメトキシフラボンを0.00005~10重量%含有する化粧品とする。化粧品としては、化粧水、乳液、水中油型クリーム、油中水型クリームなどの形態が好ましい。

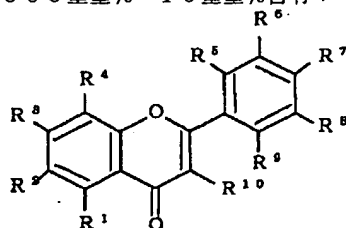
【特許請求の範囲】

*することを特徴とする化粧料組成物：

【請求項1】 以下の一般式（I）で示されるポリメト

【化1】

キシフラボンを0.00005重量%～10重量%含有*



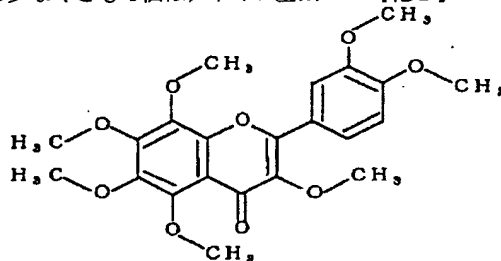
式（I）

（式中、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、およびR¹⁰は、それぞれ同一又は異なる水素原子、水酸基、炭素数1～20のアルコキシ基、炭素数1～20のアルキル基、炭素数2～20のアルケニル基、炭素数1～20のヒドロキシアルキル基又は糖残基を示すが、それらのうち少なくとも4個はメトキシ基※

※を示す。）。

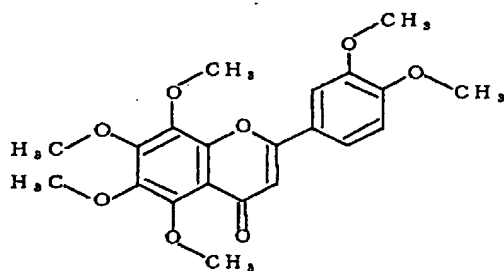
【請求項2】 前記ポリメトキシフラボンが、以下の式（II）～式（V）で示される化合物からなる群から選択される少なくとも1種の化合物を含有する、請求項1に記載の化粧料組成物：

【化2】



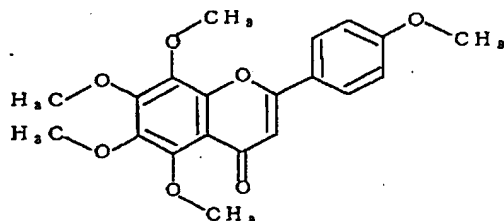
式（II）

【化3】



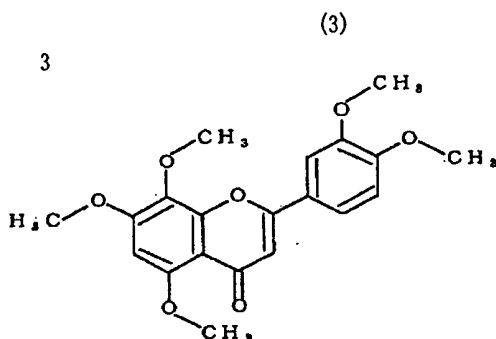
式（III）

【化4】



式（IV）

【化5】



【請求項3】 前記ポリメトキシフラボンが、5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘキサメトキシフラボンおよび5, 6, 7, 8, 4'-ペンタメトキシフラボンからなる群から選択される少なくとも1つの化合物を含む、請求項2に記載の化粧料組成物。

【請求項4】 ポリメトキシフラボンの単離精製方法であって、

ミカン科ミカン属植物の果皮を、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、酢酸エチル、アセトン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールからなる群から選択される1またはそれ以上の溶剤で抽出し、抽出物(S1)を得る工程；該抽出物(S1)を酢酸エチルに溶解し、水を加えて攪拌、分層し、水層を除いた後、酢酸エチルを留去し、乾固物(S2)を得る工程；および該乾固物(S2)を溶剤に溶解し、液体カラムクロマトグラフィーに供する工程；を含む、方法。

【請求項5】 ポリメトキシフラボンの単離精製方法であって、

ミカン科ミカン属植物の果皮を、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、酢酸エチル、アセトン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールからなる群から選択される1またはそれ以上の溶剤で抽出し、抽出物(S1)を得る工程；該抽出物(S1)をヘキサンおよび／またはクロロホルムに溶解し、沈殿物を除去した後、ヘキサンおよび／またはクロロホルムを留去して乾固物(S3)を得る工程；および該乾固物(S3)を溶剤に溶解し、液体カラムクロマトグラフィーに供する工程；を含む、方法。

【請求項6】 前記液体カラムクロマトグラフィーが、シリカゲルおよび／またはアルミナを充填剤とし、溶離液として、ヘキサン／エタノールが容積比で70/30～97/3となる混合溶液を使用する、請求項4または5に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は化粧料組成物に関する。さらに詳しくは皮膚の美白効果に優れ、日焼けによって生じる「シミ」、「ソバカス」等を効果的に防止することができ、肌のうるおいを長時間保つとともに、肌にはりを与え、しわ抑制効果に優れ、しかも安全性と保存安定性に優れた化粧料組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】 皮膚に紫外線が照射されると皮膚中のメラノサイトが活性化され、酵素チロシナーゼ及びTRP1、TRP2の働きによってメラニンの合成が促進される。そして、生成したメラニンの皮膚中での沈着がいわゆる「シミ」、「ソバカス」になることから、それを防止する為に様々な化粧料組成物、特に美白化粧料が使用されている。また、同時に、紫外線は、皮脂、細胞膜などの酸化を促進して、様々な皮膚障害をもたらすことがわかってきた。特に近年、オゾン層の破壊に伴う紫外線量の増加も問題視されており、より有効に皮膚の酸化を防止することが望まれている。

【0003】 美白効果を示す成分としては、アスコルビン酸リン酸エステル塩、ハイドロキノン誘導体、胎盤抽出物、コウジ酸、エラグ酸等が知られており、これらの成分を配合した化粧料組成物が知られている。その中でも、現在、最も一般的に使用されている成分は胎盤抽出物であり、通常、牛胎盤抽出物である。しかし、近年、狂牛病の問題が世界的に重要視されるようになってきた。そして、日本においても、2000年12月には、牛胎盤抽出物の使用が禁止された。そこで、新規で、有効な美白成分の開発が、特に望まれている。

【0004】 一方、近年、植物に含有されるポリフェノール等に高い美白効果があることが報告され、それを使用した化粧料組成物が提案されている。さらに、例えば、特開平6-16531号公報にはフラバノン類が、そして、特開平10-101543号公報にはヒドロキシフラボン類が美白効果を有することが報告されている。しかしながら、これらの美白成分はその効果がまだ十分でないだけでなく、保存安定性に欠け、製品とした時に経時で種々の問題を生じ易い。さらに、これらの美白成分は美白効果を有していても、肌にはりを与える、しわを防止するなどの、いわゆる皮膚老化防止効果を十分に与えることができないのが現状である。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 そこで、美白効果に優れるとともに、皮膚老化防止効果を十分に発揮し、使用上の安全性が高く、かつ保存安定性にも優れている化粧料組成物が求められている。

【0006】

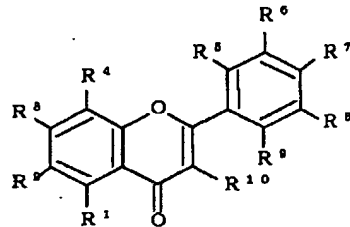
【課題を解決するための手段】 本発明は、上記課題を解決することを目的とするものであり、本発明によって、

特定のポリメトキシフラボン化合物が特定量配合することにより、十分な美白効果を発揮するとともに、肌にはりを与える、しわを防止するなどの、いわゆる皮膚老化防止効果を発揮すること、さらには、使用しても安全であり、保存安定性にも優れる化粧料組成物が提供される。

*【0007】すなわち、本発明は、以下の一般式(I)で示されるポリメトキシフラボンを0.00005重量%~10重量%含有することを特徴とする化粧料組成物である。

【0008】

【化6】



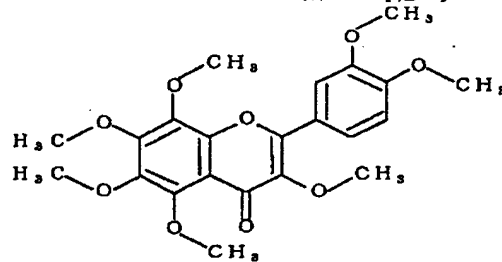
式(I)

【0009】(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、および R^{10} は、それぞれ同一又は異なる水素原子、水酸基、炭素数1~20のアルコキシ基、炭素数1~20のアルキル基、炭素数2~20のアルケニル基、炭素数1~20のヒドロキシアルキル基又は糖残基を示すが、それらのうち少なくとも4個はメトキシ基を示す。)

※【0010】好ましい実施態様においては、本発明の化粧料組成物は前記ポリメトキシフラボンが、以下の式(II)~式(V)で示される化合物からなる群から選択される少なくとも1種のポリメトキシフラボンを含有する。

【0011】

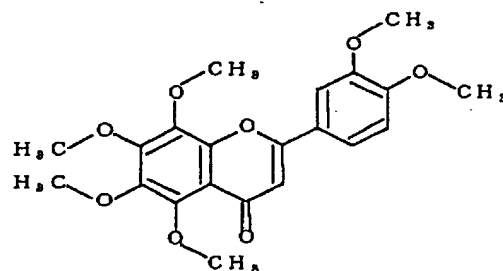
※20 【化7】



式(II)

【0012】

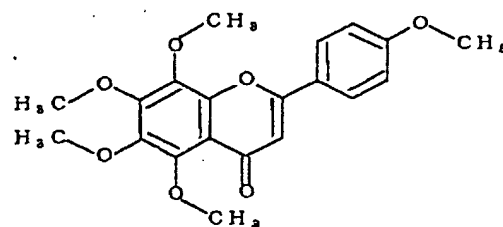
★★【化8】



式(III)

【0013】

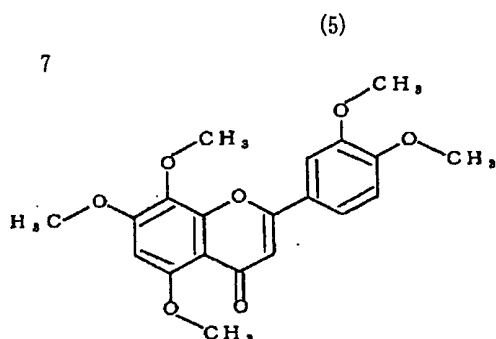
☆☆【化9】



式(IV)

【0014】

【化10】



式 (V)

【0015】好ましい実施態様においては、前記ポリメトキシフラボンが、5, 6, 7, 8, 3', 4' -ヘキサメトキシフラボンおよび5, 6, 7, 8, 4' -ペンタメトキシフラボンからなる群から選択される少なくとも1つの化合物を含む。

【0016】本発明は、また、ポリメトキシフラボンの単離精製方法であって、ミカン科ミカン属植物の果皮を、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、酢酸エチル、アセトン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールからなる群から選択される1またはそれ以上の溶剤で抽出し、抽出物 (S1) を得る工程；該抽出物 (S1) を酢酸エチルに溶解し、水を加えて攪拌、分層し、水層を除いた後、酢酸エチルを留去し、乾固物 (S2) を得る工程；および 該乾固物 (S2) を溶剤に溶解し、液体カラムクロマトグラフィーに供する工程、を含む、単離精製方法に関する。

【0017】また、別の本発明は、ポリメトキシフラボンの単離精製方法であって、ミカン科ミカン属植物の果皮を、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、

*ール、酢酸エチル、アセトン、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールからなる群から選択される1またはそれ以上の溶剤で抽出し、抽出物 (S1) を得る工程；該抽出物 (S1) をヘキサンおよび/またはクロロホルムに溶解し、沈殿物を除去した後、ヘキサンおよび/またはクロロホルムを留去して乾固物 (S3) を得る工程；および該乾固物 (S3) を溶剤に溶解し、液体カラムクロマトグラフィーに供する工程；を含む、単離精製方法に関する。

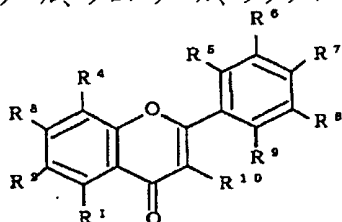
【0018】好ましい実施態様においては、前記液体カラムクロマトグラフィーが、シリカゲルおよび/またはアルミナを充填剤とし、溶離液として、ヘキサン/エタノールが容積比で70/30~97/3となる混合溶液を使用する。

【0019】

【発明の実施の形態】本発明に用いられるポリメトキシフラボンは、以下の一般式 (I)：

【0020】

【化11】



式 (I)

【0021】(式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、および R^{10} は、それぞれ同一又は異なる水素原子、水酸基、炭素数1~20のアルコキシ基、炭素数1~20のアルキル基、炭素数2~20のアルケニル基、炭素数1~20のヒドロキシアリル基又は糖残基を示すが、それらのうち少なくとも4個はメトキシ基を示す。)で示される。その構造的特徴は、フラボノイド骨格の2, 3位が還元され、そして、クロモン環及び2位に結合するベンゼン環に合計で4個またはそれ以上のメトキシ基を有する点である。すなわち、 $R^1 \sim R^{10}$ のうちの少なくとも4つは、メトキシ基である。そして、メトキシ基の位置は、クロモン環あるいはベンゼン環の何れにあってもよいが、クロモン環により多くのメトキシ基が存在する方が好ましい。

【0022】メトキシ基以外の基としては、以下の基が挙げられる。炭素数1~20のアルコキシ基としては、

炭素数1~6の低級アルコキシ基が好ましく、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基などが好ましい。

【0023】炭素数1~20のアルキル基としては、炭素数1~6の低級アルキル基が好ましく、メチル基、エチル基、プロピル基などが好ましい。

【0024】炭素数2~20のアルケニル基としては、炭素数2~6の低級アルケニル基が好ましく、エチニル基、プロペニル基などが好ましい。

【0025】炭素数1~20のヒドロキシアリル基としては、炭素数1~6の低級ヒドロキシアリル基が好ましく、ヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基、ヒドロキシプロピル基などが好ましい。

【0026】糖残基としては、例えば、グルコース、ガラクトース、フコース、キシロース、マンノース、ラムノース、フルクトース、アラビノース、リキソース、リボース、アロース、アルトロース、イドース、タロー

ス、デオキシリボース、キノボース、アベコースなどの単糖、これらの単糖が2~4個結合した、例えば、マルトース、ラクトース、セロビオース、ラフィノース、キシロビオース、スクロースなどのオリゴ糖残基が挙げられる。好ましくは、グルコース、ガラクトース、フコース、キシロース、マンノース、ラムノース、フルクトースの残基である。

【0027】具体的に好ましいポリメトキシフラボンは、例えば、式(II)で示される3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘプタメトキシフラボン、式(III)で示される5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘキサメトキシフラボン(通称名ノビレチン)、式(IV)で示される5, 6, 7, 8, 4'-ペンタメトキシフラボン(通称名タンゲレチン)、および式(V)で示される5, 7, 8, 3', 4'-ペンタメトキシフラボン等が挙げられる。

【0028】その中でも、式(III)で示される5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘキサメトキシフラボン(ノビレチン)、および式(IV)で示される5, 6, 7, 8, 4'-ペンタメトキシフラボン(タンゲレチン)が特に好ましい。

【0029】本発明に用いられるポリメトキシフラボン化合物は、化学合成法によっても得られるが、植物からの溶剤を用いた抽出物から、天然物として得ることも出来る。

【0030】化学合成法としては、例えば、Indian Journal of Heterocyclic Chemistry Vol. 6, Jan.-March 1997, pp. 221-222に記載の方法などがあり、この方法により、5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘキサメトキシフラボン(式(III):ノビレチン)が合成されている。

【0031】植物の抽出物からポリメトキシフラボンを得る方法としては、例えば、ミカン科ミカン属植物の果皮から抽出する方法が挙げられる。ミカン科ミカン属植物、例えば、ウンシュウミカン、ポンカン、ハッサク、レモン、タチバナ、ユズ、スダチ、ザボン、タンジェリン、マンダリンオレンジ、グレープフルーツなどには、ポリメトキシフラボンが含有されている(Journal of Medicinal Plant Research Vol. 46, 162-166, (1982))。これらの中で、好ましい植物はウンシュウミカン、タチバナ、ユズ、およびスダチであり、より好ましい植物は、ウンシュウミカン、およびタチバナである。

【0032】ポリメトキシフラボンの単離精製は、これらのミカン科ミカン属植物の果皮を有機溶剤で抽出し、抽出物をカラムクロマトグラフィーにより分離することにより行われる。以下、具体的に説明する。

【0033】まず、ミカン属植物の果皮を水、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール等の水溶性アルコール; アセトン、ヘキサン、酢酸エチル、クロロホルム等の溶剤; もしくはそれらの混合溶剤; を用いて

抽出する。好ましい溶剤は、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールおよび酢酸エチルからなる群から選択される1または2以上の溶剤である。より好ましい溶剤は、メタノール、エタノール、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールおよび酢酸エチルからなる群から選択される1または2以上の溶剤である。抽出液を濃縮すると目的のポリメトキシフラボンを約1~15重量%含有する抽出物(S1)が得られる。この抽出物(S1)は、さらに乾固してもよい。

【0034】この抽出物(S1)を2倍重量以上、好ましくは、3~10倍重量の酢酸エチルに溶解し、水を加えて攪拌・分層し、水層を除去してから酢酸エチルを留去して、乾固物(S2)を得る。

【0035】あるいは、抽出物(S1)をヘキサンおよび/またはクロロホルムに溶解し、攪拌、静置した後に沈殿物を除去し、その上澄みを濃縮して乾固物(S3)を得る。溶剤は、ヘキサンあるいはクロロホルムを単独で用いてもよいが、好ましくは、ヘキサン/クロロホルムを容積比で1/9~9/1、好ましくは3/7~7/3で混合した混合溶剤が用いられる。

【0036】得られた乾固物(S2)または(S3)は、好ましくは、適切な溶剤に再溶解されて液体カラムクロマトグラフィーに供され、ポリメトキシフラボンが単離・精製される。液体カラムクロマトグラフィーとしては、シリカゲルまたはアルミナを充填材とし、溶離液として、ヘキサン/エタノールを容積比で70/30~97/3で混合した混合溶剤が用いられる。

【0037】より具体的に、ミカン科タチバナ(橘)からのポリメトキシフラボンの単離・精製について説明する。乾燥させたタチバナの果皮(生薬名:キッピ)をブレンダーにて粉碎し、適切な溶剤(例えば、5倍重量の95%エタノール)に適切な時間(例えば5日間)浸漬抽出し、抽出液を濾過後、減圧濃縮してキッピ抽出物(前記S1に相当)を得る。得られたキッピ抽出物に適切な量の酢酸エチルを加えて溶解し、酢酸エチルと等量の水を加えて攪拌し、静置による分層後、水層を除去する。この操作(水洗)を複数回、好ましくは3回以上繰り返した後、酢酸エチルを留去し、乾固物(前記S2に相当)を得る。あるいは、得られたキッピ抽出物に適切な量のヘキサン/クロロホルム(容積比1/1)の混合溶剤を加え、適切な温度(例えば、4℃)で一晩静置保存し、分離手段(例えば遠心分離)により沈殿物を取り除き、上澄みを濃縮して乾固物(前記S3に相当)を得る。この乾固物(前記S2またはS3に相当)を、適切な量の適切な溶剤(例えばヘキサン/エタノール(容積比85/15))に再溶解し、例えば、ヘキサン/エタノール混合溶剤を溶離液としてシリカゲルカラムあるいはアルミナカラムによる分取液体クロマトグラフィーに供して、分画する。このようにして、ポリメトキシフラ

ボンが単離・精製される。

【0038】単離精製されたポリメトキシフラボンは、核磁気共鳴スペクトル（NMR）、質量分析スペクトルなど、当業者が通常用いる分析手段で、その構造が決定される。

【0039】尚、本発明においては、単離したポリメトキシフラボンを単独で添加してもよいし、2種以上混合して用いてもよいし、合成時の混合物のまま、あるいは植物抽出物等の複数の天然物を含む形で添加してもよい。

【0040】ポリメトキシフラボンは、化粧料組成物全量中に0.00005～10重量%含まれ、好ましくは0.0001～7重量%、更に好ましくは0.001～5重量%含まれる。0.00005重量%未満では十分な美白効果を得ることができず、また、肌に張りを与える効果、およびしわを抑制する効果を得ることができず、10重量%を超えると経時安定性に問題を生じるだけでなくコスト的に不利である。

【0041】さらに、本発明の化粧料組成物には、美白成分として知られているアスコルビン酸及びその誘導体、コウジ酸及びその誘導体、アルブチン等のヒドロキノン誘導体、胎盤抽出物、エラグ酸及びその誘導体を配合することができる。これらの美白成分は、0.01～10重量%配合されることが好ましい。これらの美白成分と、ポリメトキシフラボンとを併用することにより、美白効果を相乗的に高めることも出来る。

【0042】尚、本発明の化粧料組成物には、化粧料組成物の性能を損なわない程度に、化粧料に常用されている基剤、添加剤などが、化粧料の種類に応じて適宜、配合される。例えば、エタノール、イソプロピルアルコール等の低級アルコール類；グリセリン、1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、ポリエチレングリコール等の多価アルコール類；流動パラフィン、流動イソパラフィン、スクワラン、ワセリン、固形パラフィン等の炭化水素系油；牛脂、豚脂、魚油等の天然油脂類；トリ2-エチルヘキサン酸グリセリル等の合成トリグリセリド；ミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル、パルミチン酸セチル、オレイン酸エチル、オレイン酸オレイル、ミリスチン酸オクチルドデシル等のエステル油；ミツロウ、カルナバロウ等のロウ類；直鎖及び環状のジメチルポリシロキサン、ポリエーテル変性ジメチルポリシロキサン、アミノ変性ジメチルポリシロキサン等のシリコン誘導体；セラミド、コレステロール、蛋白誘導体、ラノリン、ラノリン誘導体、レシチン等の油性基剤；石鹸、アシルメチルタウリン塩、アミドエーテル硫酸エステル塩等の陰イオン性界面活性剤；アミドアミノ酸塩、アミドプロピルジメチルベタイン等の両性界面活性剤；ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、

ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン硬化ひまし油、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル、グリセリンモノ脂肪酸エステル、アルキルポリグルコシド、アルカノールアミド等の非イオン性界面活性剤；塩化アルキルトリメチルアンモニウム等の陽イオン性界面活性剤；アルキルジメチルアミノオキシド等の半極性界面活性剤；アルギン酸、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、キサンタンガム、ヒアルロン酸等の水溶性高分子；ピロリドンカルボン酸塩、クエン酸塩、リンゴ酸塩、食塩等の有機又は無機塩類；pH調整剤である酸及びアルカリ；抗炎症剤；殺菌剤、キレート剤、抗酸化剤、紫外線吸収剤、動植物由来の天然エキス、色素及び香料等を配合することができる。

【0043】本発明の化粧料組成物は、化粧水、乳液、水中油型クリーム、油中水型クリームなどの形態に好ましく用いられる。

【0044】

【実施例】次に実施例によって本発明を更に詳細に説明するが、本発明がこれらの実施例により限定されることはない。

【0045】（製造例1：ポリメトキシフラボンの単離）ミカン科タチバナ（橘）の乾燥果皮（生薬名「キッピ」）10kgをブレンダーにて粉碎し、5倍重量の95%エタノール（一級）で5日間浸漬、抽出した。抽出液を濾過後、減圧濃縮してキッピ抽出物550gを得た。このキッピ抽出物を5倍重量の酢酸エチルに溶解し、酢酸エチルと等量の水を加えて攪拌し、静置した。分層後、水層を除去した（水洗）。この操作（水洗）を3回繰り返した後、酢酸エチルを留去し、乾固物300gを得た。さらに、この乾固物を2倍重量のヘキサン/エタノール混合溶剤（容積比85/15）に溶解し、溶解液を得た。シリカゲルを充填したカラム（φ30cm、長さ1m）にこの溶解液を全量チャージした。このカラムにカラム容量の2倍容量のヘキサンを流した後、溶離液としてヘキサン/エタノール混合溶剤（容積比90/10）を使用し、溶出液を1Lずつ分画した。この各分画液について、展開溶剤としてヘキサン/エタノール混合溶剤（容積比90/10）を使用したシリカゲル薄層クロマトグラフに供して分析したところ、化合物1～4の存在を確認した。そして、それぞれの化合物を含有する分画液を合一してから溶媒を留去し、化合物1～4を得た。各化合物の収量は化合物1が7g、化合物2が63g、化合物3が33g、そして、化合物4が13gであった。

【0046】得られたそれぞれの化合物1～4について、核磁気共鳴スペクトル（NMR）、質量分析スペクトル（MS）を用いて分析した。化合物2の¹H-NM

R、 ^{13}C -NMR及びMSスペクトルを図1～3に、化合物3の ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR及びMSスペクトルを図4～6に示す。

【0047】これらのデータと文献(Natural Medicines 51(3), 190-193(1997)、Chem. Pharm. Bull. 37, 1092(1989)、薬学雑誌(YAKUGAKU ZASSHI) 116(3), 244-250(1996)、およびTetrahedron, 16(8), 64(1964)に記載されたデータとを比較すると、化合物2は、5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘキサメトキシフラボン(式(II))：ノビレチン)と同定された。また、化合物3は

5, 6, 7, 8, 4'-ペンタメトキシフラボン(式(IV))：タンゲレチン)と同定された。

【0048】残りの化合物(化合物1および化合物4)について、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR及びMSスペクトルを式(III)および式(IV)の化合物の ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR及びMSスペクトルと比較して、構造を決定し、それぞれ、3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-ヘキサメトキシフラボン(式(II))、および5, 7, 8, 3', 4'-ペンタメトキシフラボン(式(V))であるとした。

【0049】(製造例2：ポリメトキシフラボンの単離)ミカン科タチバナ(橘)の乾燥果皮(生薬名「キッピ」)10kgをブレンダーにて粉碎し、5倍重量の95%エタノール(一級)で5日間浸漬、抽出した。抽出液を濾過後、減圧濃縮してキッピ抽出物560gを得た。このキッピ抽出物にヘキサン/クロロホルム(容積比1/1)の混合溶剤5倍量を加えて約30分間攪拌した。その後、4℃で一晩静置し、デカンテーションによ*

*り上清液を採取してから溶剤を留去し、乾固物320gを得た。この乾固物を製造例1と同じ方法でカラムクロマトグラフに供して分離・精製し、化合物1～4を採取した。各化合物の収量は化合物1が6g、化合物2が65g、化合物3が35g、そして、化合物4が14gであった。なお、分析の結果、化合物1～4は、それぞれ、式(II)～式(V)の化合物であった。

【0050】(美白効果の確認-1：メラニン抑制効果の確認)得られた式(II)～式(V)の化合物を用いて、ヒトメラノーマ細胞(HM3KO)の、in vitroにおける、メラニン生成に対する抑制効果を調べた。すなわち、常法により 5×10^5 程度に培養したHM3KOを遠心分離にて集めてペレットとし、これを予め、10%ウシ胎児血清含有イーグル培地を添加した直径10cmの培養ディッシュに接種し、37℃で24時間培養した。その後、式(II)～式(V)の各ポリメトキシフラボンを、そして比較として、コウジ酸、またはアルブチンを最終添加濃度として10 μM になるように添加し、さらに6日間培養した。培養後、遠心分離により細胞を集め、2Nの水酸化ナトリウム水溶液1mlを加えて溶解させた。その溶解液について分光光度計により波長410nmの吸光度を測定した。ここで、試料無添加の細胞溶解液の吸光度をメラニン生成率100%とし、各溶解液の吸光度から、メラニン生成率を相対値として表した。結果を表1に示す。

【0051】

【表1】

試料	培地中の試料濃度 (μM)	メラニン生成率 (% of control)
(無添加)	0	100
3,5,6,7,8,3',4'-ヘキサメトキシフラボン：式(II)	10	65
5,6,7,8,3',4'-ヘキサメトキシフラボン：式(III)	10	35
5,6,7,8,4'-ペンタメトキシフラボン：式(IV)	10	55
5,7,8,3',4'-ペンタメトキシフラボン：式(V)	10	60
コウジ酸	10	96
アルブチン	10	97

【0052】表1の結果は、式(II)～式(V)のポリメトキシフラボンは、何れも、HM3KOの黒色化を著しく抑制したことを示している。その効果は、コウジ酸やアルブチンをはるかに凌いでいた。

【0053】(美白効果の確認-2：紫外線誘導色素沈着の抑制)褐色モルモットを用いてin vivoにおける紫外線誘導色素沈着の抑制効果を検討した。すなわち、褐色モルモットの背部を剃毛し、2×2cmの長方形の穴を6ヶ所開けた紫外線遮蔽板で覆い、紫外線を照射し ※

※(0.5J/cm²)、色素沈着を形成させた。その後、式(III)のポリメトキシフラボン(ノビレチン)、または式(IV)のポリメトキシフラボン(タンゲレチン)をそれぞれ、表2に記載の濃度で含有する70%(W/W)エタノール水溶液40 μL を1日2回塗布した。そして、塗布前と塗布後の黒化の度合いを色差計にて測定した。結果を表2に示す。

【0054】

【表2】

試料	試料濃度 (%)	黒化度 ΔL		
		照射前	20日後	40日後
(無添加)	0	0	-7.8	-5.2
5,6,7,8,3',4'-ヘキサメトキシフラボン：式(III)	4	0	-5.1	-1.9
5,6,7,8,3',4'-ヘキサメトキシフラボン：式(III)	0.4	0	-5.5	-3.2
5,6,7,8,4'-ペンタメトキシフラボン：式(IV)	4	0	-5.6	-3.3
5,6,7,8,4'-ペンタメトキシフラボン：式(IV)	0.4	0	-6.1	-3.5

【0055】なお、表2において、黒化度 ΔL は、色素 50 計で、UV照射前のL値を測定してこれを0とし、UV

照射後のL値との差として求めた。値の低い方が黒化度は高い。

【0056】表2より、本発明に用いられるポリメトキシシフラボン褐色モルモットの色素の生成を顕著に抑制することが判った。

【0057】(実施例1～4及び比較例1～3)以下の表3に示す5成分を共通成分として使用し、表4に示す成分を含有する化粧水である化粧料組成物を調製した。使用したポリメトキシシフラボンは製造例にて単離、精製した式(III)および式(IV)のポリメトキシシフラボンである。

【0058】

【表3】

<共通添加成分>

	成分名	添加量(重量%)
1	クエン酸3ナトリウム・2水和物	0.3
2	エタノール	3
3	メチルパラベン	0.1
4	フェノキシエタノール	0.2
5	無水亜硫酸ナトリウム	0.1
	計	3.7

【0059】得られた化粧料組成物について、下記の方法により評価を行なった。結果を表4に示す。

【0060】(1)美白効果

50名の女性(20才代～30才代)をパネラーとし、1日朝晩2回ずつ2ヶ月間化粧料を使用させ、その後の皮膚の「シミ」、「ソバカス」の改善度を肉眼で下記の基準で判定した。

10点：明らかに有効であると判断された場合。

5点：やや効果が有ると判断された場合。

0点：全く効果が無いと判断された場合。

50名の平均値を求めて、平均値5点以上を美白効果の高い化粧料であると評価した。

○：美白効果が高い(平均点5点以上)。

×：美白効果が低い(平均点5点未満)。

【0061】(2)肌のうるおい

20名の女性(22才～32才)をパネラーとし、洗顔後に化粧料を使用して直後の肌のうるおいと2時間後の肌のうるおいについて、下記の基準で判定した。

2点：使用直後から肌にうるおいが十分にあり、2時間後も肌がしっとりしていると感じた場合。

1点：使用直後の肌のうるおいがやや足りない、もしくは、2時間後の肌がややかさかさすると感じた場合。

0点：肌のうるおいが足りないと感じた場合。

20名の平均値を求めて、平均値1.5点以上を肌のうるおいを保つ効果の高い化粧料であると評価した。

○：肌のうるおいを保つ効果が高い(平均点1.5点以上)。

×：肌のうるおいを保つ効果が低い(平均点1.5点未満)。

【0062】(3)肌のはり

20名の女性(22才～32才)をパネラーとし、洗顔後に化粧料を使用したときの肌のはりについて、下記の基準で判定した。

2点：肌にはりがあると感じた場合。

1点：やや肌にはりがあると感じた場合。

0点：肌にはりが無いと感じた場合。

20名の平均値を求めて、平均値1.5点以上を肌にはりを与える効果の高い化粧料であると評価した。

○：肌にはりを与える効果が高い(平均点1.5点以上)。

×：肌にはりを与える効果が低い(平均点1.5点未満)。

【0063】(4)しわ抑制効果

20名の女性(24才～35才)をパネラーとし、化粧料を1日2回(朝、夜)ずつ2週間連続で使用したときの肌の状態について、下記の基準で判定した。

2点：しわが明らかに目立たなくなったと感じた場合。

1点：しわがやや目立たなくなったと感じた場合。

0点：しわ抑制効果が全くないと感じた場合。

20名の平均値を求めて、平均値1.5点以上をしわ抑制効果の高い化粧料であると評価した。

○：しわを抑制する効果が高い(平均点1.5点以上)。

×：しわを抑制する効果が低い(平均点1.5点未満)。

【0064】(5)経時安定性

化粧料を透明ガラス容器に密封して0℃、25℃、40℃で3ヶ月間保存し、その外観を観察して、下に示す3段階で評価した。

○：安定性良好(いずれの温度においても外観の変化がない)。

△：安定性やや不良(いずれかの温度において若干おり、沈殿を生じる又は若干着色を生じる)。

×：安定性不良(いずれかの温度においており、沈殿を生じる又は分離する。もしくは着色が著しい)。

【0065】結果を表4に示す。

【0066】

【表4】

17

18

	実施例(重量%)				比較例(重量%)		
	1	2	3	4	1	2	3
a. 5,6,7,8,3',4'-ヘキサメキシフラボン:式(Ⅲ)	2	---	0.5	0.3	---	---	---
a. 5,6,7,8,4'-ヘキサメキシフラボン:式(Ⅳ)	---	2	---	0.1	---	---	---
胎盤抽出物	---	---	---	---	---	0.5	---
アスコルビン酸リン酸マグネシウム塩	---	---	0.5	---	---	0.5	3
グリセリン	---	2	2	2	2	2	2
シクロヘキサリコール	---	3	3	3	3	3	3
クエン酸・1水和物	0.1	0.1	---	0.1	0.1	---	---
共通添加成分	3.7				3.7		
精製水	残 部				残 部		
計	100				100		
(1)美白効果	○(7.0)	○(6.3)	○(7.5)	○(7.2)	×(1.8)	×(2.2)	×(3.7)
(2)肌のうるおい	○(1.7)	○(1.8)	○(1.9)	○(1.8)	×(1.2)	×(1.4)	×(1.4)
(3)肌のはり	○(1.7)	○(1.9)	○(1.8)	○(1.7)	×(1.3)	×(1.3)	×(1.3)
(4)しわ抑制効果	○(1.8)	○(1.9)	○(1.8)	○(1.7)	×(1.2)	×(1.2)	×(1.3)
(5)経時安定性	○	○	○	○	○	○	×

【0067】実施例1～4より、本発明の、ポリメトキシフラボンを配合した化粧水はいずれも美白効果に優れるとともに、うるおいを長時間保ち、肌にはりを与える効果およびしわ抑制効果に優れ、経時安定性にも優れていた。一方、比較例1～3では十分な性能が得られていない。つまり、比較例1ではポリメトキシフラボンが配合されていないことから美白効果が殆ど無く、ポリメトキシフラボンに代えて胎盤抽出物（プラセンタエキス）を用いる比較例2は、美白効果が弱く、はだのうるおい、肌のはり、しわの抑制効果は得られていない。ポリ*

*メトキシフラボンに代えてアスコルビン酸塩を用いる比較例3は、美白効果が弱く、はだのうるおい、肌のはり、しわの抑制効果は得られていないうえ、保存安定性に問題を生じている。

【0068】（実施例5～7）以下の表5に示す12成分を共通成分として使用し、表8に示す水中油型乳液である美白化粧料組成物を調製した。

【0069】

【表5】

<共通添加成分>

	成 分 名	添加量(重量%)
1	キサンタン(大日本製薬(株)製「キサンTJ」)	0.1
2	カルボキチン酸ポリマー(BF-GoodRich社製「カルボキチン酸 940」)	0.12
3	エタノール	5
4	精製ひまわり油	5
5	スクワラン	3
6	ミリスチン酸オクチルドデシル	2
7	ポリオキシエチレン(32モル)モノステアレート	0.5
8	ポリオキシエチレン(20モル)ステアリルエーテル	0.7
9	モノステアリン酸グリセリン	1
10	メチルパラベン	0.1
11	ブチルパラベン	0.05
12	フェノキシエタノール	0.2
	計	17.77

【0070】得られた乳液を実施例1～4と同じ方法により評価した。結果を表8に示す。

【0071】（実施例8～9）以下の表6に示す12成分を共通成分として使用し、表8に示す成分を含有する

水中油型クリームである皮膚化粧料組成物を調製した。

【0072】

【表6】

<共通添加成分>

	成分名	添加量(重量%)
1	精製オリーブ油	8
2	スクワラン	3
3	ミリスチン酸オクチルドデシル	2
4	ジメチルポリシロキサン(100CS)	1
5	精製ミツロウ	3
6	ポリオキシエチレン(20モル)ソルビタンモノステアレート	1
7	ポリオキシエチレン(75モル)モノステアレート	1
8	モノステアリン酸グリセリン	2
9	酢酸トコフェロール	0.05
10	メチルパラベン	0.2
11	プロピルパラベン	0.1
12	ブチルパラベン	0.1
	計	21.45

【0073】得られた水中油型クリーム的美白効果を実施例1～4と同じ方法により評価した。経時安定性については下記の(5')に示す方法により評価を行なった。

【0074】(5') 経時安定性

化粧品を透明ガラス容器に密封して-5℃、25℃、45℃で1ヶ月間保存したときの状態を調査し、下に示す3段階で評価した。

○：安定性良好 (いずれの温度においても外観の変化がなくブツ等も生じない。)

△：安定性やや不良 (いずれかの温度において僅かに沈殿を生じるか僅かに分離が見られる。又は僅かにブツ、ダマを生じている。)

×：安定性不良 (いずれかの温度において明らかに沈殿を生じるか分離する。又はブツやダマを生じる。)

【0075】結果を表8に示す。

【0076】(実施例10～11)以下の表7に示す12成分を共通成分として使用し、表8に示す成分を含有する油中水型クリームである化粧品組成物を調製した。*30

	実施例(重量%)						
	5	6	7	8	9	10	11
a. 5,8,7,8,3',4'-ヘキサドキシフラボン：式(Ⅲ)	1	—	0.5	2	0.5	1	2
a. 5,8,7,8,4'-ヘキサドキシフラボン：式(Ⅳ)	—	2	—	—	1	—	1
グリセリン	2	2	2	2	2	2	2
シアロヒレングリコール	2	2	2	3	3	3	3
ポリエチレングリコール1540	2	2	2	—	—	—	—
アスコルビン酸リン酸マグネシウム塩	—	—	—	0.5	—	—	—
レアルギニン	0.1	0.1	0.1	—	—	—	—
セタノール	2	—	—	3	—	—	3
ヘニールアルコール	—	1	1	—	3	2	—
デカメチルシクロシラン	—	—	—	3	—	—	—
共通添加成分	17.77			21.45		21.7	
精製水	残 部						
計	100						
(1)美白効果	○(7.1)	○(6.4)	○(7.8)	○(7.2)	○(6.8)	○(7.6)	○(8.1)
(2)肌のうるおい	○(1.9)	○(1.9)	○(1.8)	○(1.9)	○(1.8)	○(2.0)	○(2.0)
(3)肌のはり	○(1.8)	○(1.9)	○(1.9)	○(1.8)	○(1.9)	○(1.8)	○(1.8)
(4)しわ抑制効果	○(1.9)	○(2.0)	○(1.9)	○(1.9)	○(1.9)	○(1.8)	○(1.8)
(5)経時安定性	○	○	○	—	—	—	—
(5')経時安定性	—	—	—	○	○	○	○

【0081】実施例5～7から、本発明の化粧品組成物(乳液)はいずれも美白効果に優れるとともに、うるおいを長時間保ち、肌にはりを与える効果、およびしわ抑制効果に優れ、経時安定性にも優れていることが示された。

【0082】実施例8～9より、本発明の皮膚化粧品組

*【0077】

【表7】

<共通添加成分>

	成分名	添加量(重量%)
1	精製ホホバ油	3
2	精製ひまわり油	6
3	ジメチルポリシロキサン(100CS)	1
4	スクワラン	4
5	ミリスチン酸オクチルドデシル	5
6	モノオレイン酸グリセリン	1.5
7	モノオレイン酸ジグリセリン	0.2
8	酢酸トコフェロール	0.1
9	メチルパラベン	0.2
10	プロピルパラベン	0.1
11	ブチルパラベン	0.1
12	硫酸マグネシウム(7水和物)	0.5
	計	21.7

【0078】得られた油中水型クリームについて、実施例8～9と同じ方法により評価した。

【0079】結果を表8に示す。

【0080】

【表8】

成物(クリーム)はいずれも美白効果に優れるとともに、うるおいを長時間保ち、肌にはりを与える効果、およびしわ抑制効果に優れ、経時安定性にも優れていることが示された。

【0083】実施例10～11より、本発明の化粧品組成物(クリーム)はいずれも美白効果に優れるとともに

21

に、うるおいを長時間保ち、肌にはりを与える効果、およびしわ抑制効果に優れ、経時安定性にも優れていることが示された。

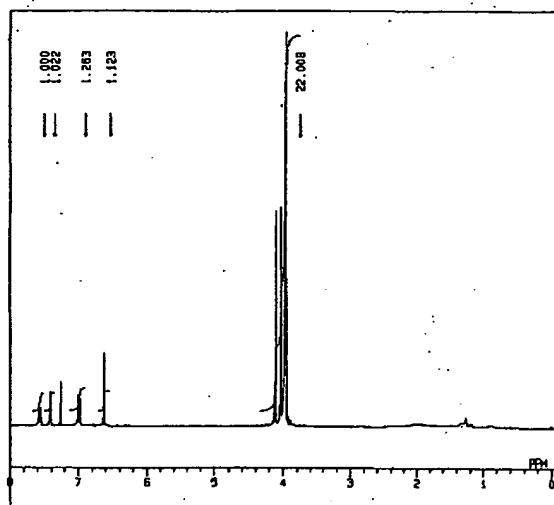
【0084】

【発明の効果】以上記載のように、本発明の化粧品組成物は美白効果に優れるとともに経時安定性にも優れている。

【図面の簡単な説明】

【図1】式 (III) で示される化合物の ^1H -NMR を示す図である。

【図1】



22

* 【図2】式 (III) で示される化合物の ^{13}C -NMR を示す図である。

【図3】式 (III) で示される化合物のマススペクトルを示す図である。

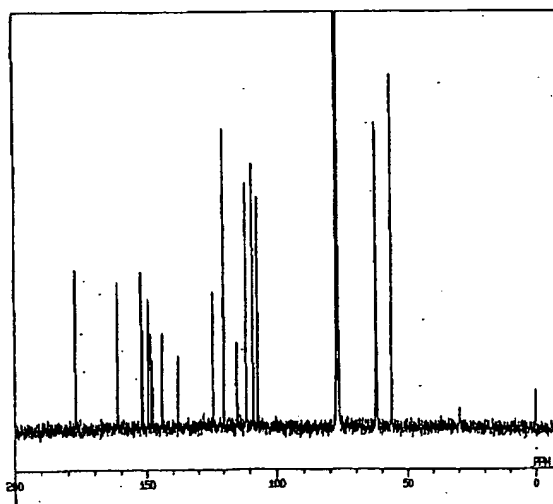
【図4】式 (IV) で示される化合物の ^1H -NMR を示す図である。

【図5】式 (IV) で示される化合物の ^{13}C -NMR を示す図である。

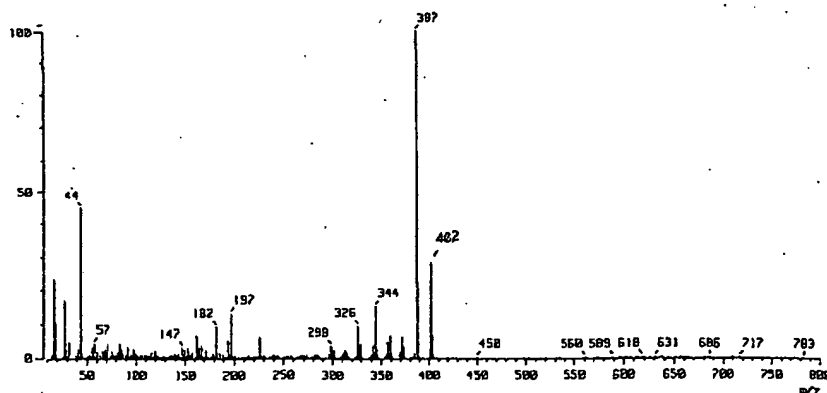
【図6】式 (IV) で示される化合物のマススペクトルを示す図である。

*10 示す図である。

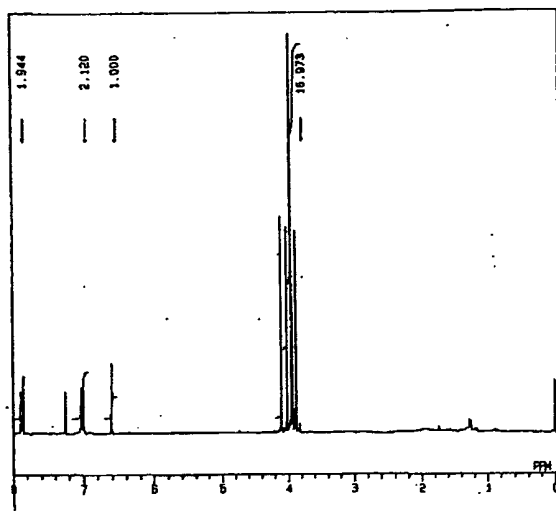
【図2】



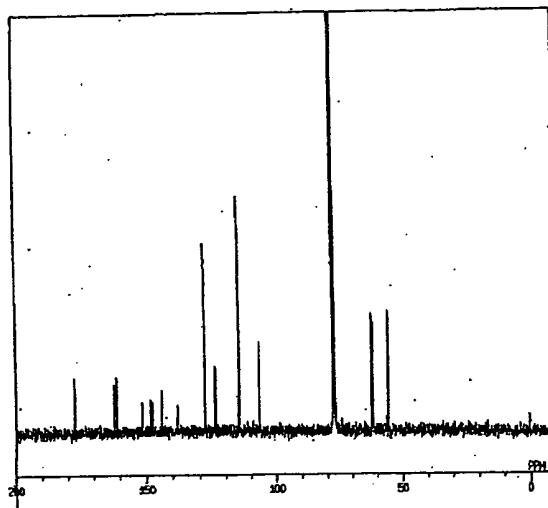
【図3】



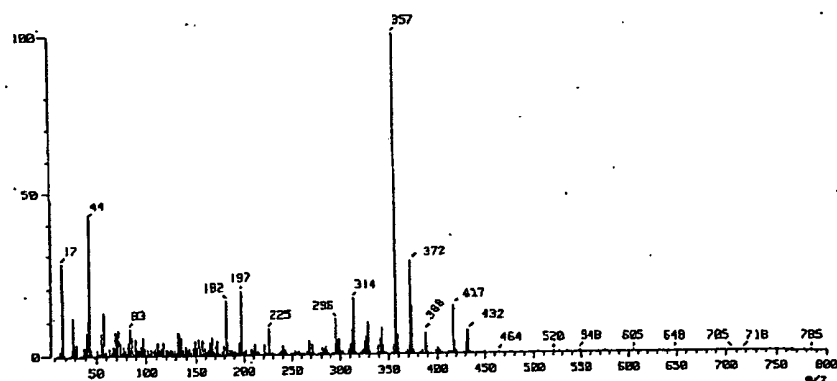
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

Fターム(参考) 4C083 AA072 AA082 AA122 AB352
 AC022 AC072 AC102 AC122
 AC172 AC182 AC242 AC302
 AC352 AC422 AC442 AC482
 AC582 AC831 AC832 AD042
 AD092 AD162 AD352 AD642
 AD662 CC04 CC05 DD23
 DD31 EE01 EE06 EE16 FF01

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USP)